МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ
ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных

Москва — 1972

gost.e-ecolog.ru

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ
ВСЕСОЮЗНЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных

(Утверждены Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 30 октября 1971 года)

Москва—1972

Методические указания разработаны Всесоюзным ордена Ленина институтом экспериментальной ветеринарии на основе работ лаборатории антибиотиков и микологии ВИЭВ и данных отечественных и зарубежных исследователей. Методические указания рассмотрены и одобрены Научно-техническим Советом Министерства сельского хозяйства СССР 25 февраля 1971 года и доработаны с учетом поступивших замечаний и предложений комиссией в составе: тт. Грезина В. Ф., Колякова Я. Е., Окунькова П. С., Тришкиной Е. Т., Фортушного В. А.

1. Одним из основных элементов рационального применения антибиотиков в ветеринарии при инфекционных болезнях является определение чувствительности возбудителя болезни к этим препаратам. Это необходимо для того, чтобы избрать наиболее эффективный препарат из числа рекомендованных при данном заболевании и для своевременной замены длительно применяемого в животноводстве антибиотика другим, если установлена резистентность к нему патогенных микроорганизмов.

Систематическое определение уровня чувствительности возбудителей инфекционных болезней к антибиотикам позволяет прогнозировать результативность антибиотикотерапии в конкретных хозяйствах и зонах.

2. Установленная лабораторией чувствительность патогенных микроорганизмов к антибиотику позволяет применять этот препарат для лечения животных в течение 1—2 месяцев. При отсутствии терапевтического эффекта определение чувствительности культур возбудителя болезни следует повторить независимо от длительности применения антибиотика в хозяйстве.

3. Чувствительность микроорганизмов к антибиотику дает основание использовать для лечения другие антибиотики одноименной группы. Возбудитель болезни, чувствительный к окситетрациклину, будет чувствителен и к хлортетрациклину, тетрациклину, биоветину и другим тетрациклиновым препаратам.

4. Среди микроорганизмов отмечают перекрестную устойчивость к антибиотикам, родственным по химической структуре. Возбудитель болезни, устойчивый к пенициллину, будет резистентен и к бициллину, феноксиметилпенициллину и другим препаратам этой группы, за исключением полусинтетических пенициллинов.

5. Чувствительность микроорганизмов определяют минимальной концентрацией антибиотика (*мкг, ЕД/мл*), которая задерживает рост или убивает их в течение 16—18 часов. Для этой цели используют два наиболее распространенных метода:

— метод серийных разведений на жидкой или плотной питательной среде;

— метод диффузии в агар с применением дисков, содержащих антибиотики.

6. При определении чувствительности патогенных микроорганизмов к антибиотикам необходимо соблюдать следующие основные условия:

— определять чувствительность возбудителя болезни к тем антибиотикам, которые рекомендованы при этом заболевании методическими указаниями по применению антибиотиков в ветеринарии;

— использовать 5—10 колоний чистой культуры каждого вида микроорганизмов в отдельности, выделенных из патологического материала;

— применять питательные среды, одинаковые по составу, проценту агара, аминного азота, pH;

— антибиотики, диски, количество посевного материала (микробных клеток), контрольные тест-культуры должны отвечать определенным стандартам;

— не применять метод дисков и метод серийных разведений на плотной питательной среде для исследования микроорганизмов, дающий скудный или обильный, быстро распространяющийся на поверхности агара рост;

— плотно закрывать и парафинировать вскрытые ампулы и флаконы после извлечения части антибиотиков или дисков;

— для контроля определения чувствительности испытуемых микробов и проверки новых партий питательных сред параллельные исследования вести с соответствующими для каждого антибиотика тест-микробами, чувствительность которых указана в приложении 1;

— при выявлении устойчивых штаммов методом диффузии в агар с применением дисков заключительное исследование проводить методом серийных разведений.

МЕТОД СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

Основные элементы метода:

выбор питательных сред;
приготовление растворов антибиотиков;
подготовка культур для исследования;
учет результатов.

7. Выбор питательных сред.

Состав питательной среды выбирают в зависимости от вида испытуемых микроорганизмов и метода, используемого при определении чувствительности. Среда должна обеспечивать оптимальный рост культуры. В основном следует применять следующие питательные среды:

а) Жидкие питательные среды для аэробных бактерий:

— мясо-пептонный бульон (pH 7,2—7,4);

— бульон Хоттингера с содержанием 180—200 *мг*% аминного азота (pH 7,4—7,6).

б) Плотные питательные среды для аэробных бактерий:

2%-ный агар на мясо-пептонном бульоне;

2%-ный агар на переваре Хоттингера с содержанием 120—140 *мг*% аминного азота;

2%-ный мясо-пептонный агар с добавлением 5% крови или сыворотки крови.

Питательные среды готовят с pH 7,2—7,4.

в) Питательная среда для анаэробных бактерий. Среда Китт—Тароцци без кусочков печени с добавлением 0,5% глюкозы (pH 7,4—7,6), которую перед исследованием следует прокипятить 5—10 минут и быстро охладить.

Для каждого штамма микроорганизмов, при определении чувствительности к одному антибиотику, необходимо: 6 пробирок с питательной средой по 2 *мл* (для анаэробов по 9 *мл*) для серийного разведения антибиотика, две пробирки по 9—10 *мл* питательной среды для разведения культуры и питательная среда в колбе для приготовления рабочего раствора антибиотика.

8. Приготовление растворов антибиотиков. Применяют два раствора — основной и рабочий. Для приготовления их используют стандарты антибиотиков с определенной активностью. Стандарты выпускает Государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов расфасованными в ампулы. Срок годности 2—3 года при температуре хранения 2—8°.

Основной раствор готовят из расчета 1000 *мкг* (ЕД) антибиотика в 1 *мл* растворителя. При определении чувствительности анаэробных микроорганизмов или при использовании в работе агаровой среды основной раствор готовят из расчета 10 000 *ЕД/мл*.

Навеску стандарта антибиотика (не менее 10 *мг*) взвешивают в стерильных бюксах на аналитических весах и растворяют. В таблице указаны растворители и сроки хранения основных растворов антибиотиков.

Стандарты	Растворители	Срок хранения (дней)
Хлортетрациклин	0,01 н. раствор соляной кислоты	7
Окситетрациклин	То же	7
Тетрациклин	»	7
Олеандомицин	Фосфатный буфер pH 6,0—6,2	7
Стрептомицин сернокислый	То же pH 6,0—6,2	30
Левомицетин	» pH 6,0—6,2	30
Полимиксин сульфат	» pH 6,0—6,2	30
Пенициллины	» pH 6,8—7,0	3
Эритромицин основание	» pH 7,8—8,0	7
Неомицин (мицерин, колимицин), мономицин	Дистиллированная вода pH 6,0—6,2	15

Приготовление фосфатных буферных растворов приведено в приложении 2.

Примечания: 1. Навески стандартов эритромицина и левомицетина предварительно растворяют в 96° этиловом спирте из расчета 10 *мг* антибиотика на 1 *мл* спирта, затем добавляют соответствующий фосфатный буфер до нужного объема.

2. Основные растворы можно готовить и на дистиллированной воде, которые хранят в стеклянной посуде с притертой пробкой при температуре 2—8° и используют не более 3—15 дней.

Пример: приготовление основного раствора эритромицина с концентрацией 1000 *мкг/мл*.

Навеска стандарта эритромицина составила 18,5 *мг*. Зная активность антибиотика (940 ЕД в 1 *мг*), определяем общее количество действующего начала в навеске (ЕД или *мкг*): 940 ЕД×18,5=17 390 ЕД. Для получения раствора с содержанием 1000 *мкг/мл* растворителя необходимо — 17390 : : 1000=17,4 *мл*. Вначале в бюкс наливают 2 *мл* этилового спирта. После растворения эритромицина добавляют 15,4 *мл* фосфатного буфера.

Рабочие растворы по активности должны быть приближены к ожидаемой чувствительности исследуемых культур. Их готовят из основного раствора непосредственно перед опытом, применяя для разведения питательную среду. При этом необходимо учитывать используемый метод, количество штаммов, подлежащих исследованию, и предполагаемую чувствительность микроорганизмов. В таблице приложения 3 приведены показатели чувствительности к 9 антибиотикам 19 видов патогенных для животных микроорганизмов.

а) Приготовление рабочего раствора для исследования чувствительности аэробных микроорганизмов на жидкой питательной среде

Растворы антибиотиков готовят в пробирках методом последовательных серийных разведений с таким расчетом, чтобы предполагаемая чувствительность культуры приходилась на середину ряда. С этой целью исходный рабочий раствор готовят в объеме достаточном, чтобы добавить по 2 *мл* в первую пробирку каждого ряда, взятых по числу исследуемых культур. Концентрация антибиотика в этом растворе должна быть в два раза выше концентрации, намеченной для первой пробирки ряда В случае, если чувствительность культур, взятых для определения, находится в пределах 0,01—0,1 *мкг/мл*, для получения необходимой концентрации антибиотика вначале в пробирках и колбе готовят стерильный рабочий раствор с активностью 0,5 *мкг/мл*.

В первую пробирку ряда, в котором предварительно была разлита питательная среда по 2 *мл*, вносят из колбы 2 *мл* рабочего раствора антибиотика с концентрацией 0,5 *мкг/мл*. Содер-

жимое пробирки тщательно перемешивают. Из первой пробирки 2 *мл* среды с антибиотиком переносят во вторую, из второй 2 *мл* в третью и так до последней пробирки ряда. Таким образом будет получена питательная среда с концентрацией 0,25; 0,12; 0,06; 0,03; 0,015; 0,007 *мкг* антибиотика в 1 *мл*.

Рабочие растворы антибиотиков готовят для определения чувствительности салмонелл и кишечных палочек на мясо-пептонном бульоне; для возбудителей рожи, пастереллеза, листериоза — на бульоне Хоттингера.

б) Приготовление рабочих растворов для исследования чувствительности аэробных микроорганизмов на плотной питательной среде

Для получения соответствующих рабочих разведений одного антибиотика берут 6 стерильных пробирок и 6 бактериологических чашек. Предполагаемая чувствительность штаммов 2—4 *мкг/мл*. В этом случае следует взять 6 чашек, содержащих 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6 *мкг/мл* антибиотика. Учитывая, что общий объем питательной среды в чашке будет составлять 20 *мл*, в первую чашку нужно добавить 1 *мл* МПБ, содержащего 400 *мкг/мл* антибиотика.

Для приготовления рабочих растворов берут одну пробирку с 2,4 *мл* и пять пробирок, содержащих по 2 *мл* МПБ или дистиллированной воды.

Из основного раствора активностью 1000 *мкг/мл* отмеряют 1,6 *мл* (1600 *мкг*) и вносят в первую пробирку с 2,4 *мл* растворителя, в которой, таким образом, концентрация будет доведена до 400 *мкг/мл*. Из этой пробирки 2 *мл* переносят во вторую, 2 *мл* из второй в третью и так далее. Количество антибиотика в пробирках будет составлять 400, 200, 100, 50, 25, 12,5 *мкг/мл*. Из каждой пробирки, начиная с меньшего разведения, берут по 1 *мл*, вносят в соответствующую чашку и добавляют из колбы 19 *мл* расплавленной (55—65°) агаровой среды. Содержимое вращательным движением смешивают и оставляют остывать. Концентрация антибиотика в бактериологических чашках будет в 20 раз ниже, чем в МПБ пробирок, в которых предварительно разводили антибиотик.

в) Приготовление рабочих растворов для исследования чувствительности анаэробных микроорганизмов

Рабочие растворы антибиотиков готовят на среде Китт—Тароцци без кусочков печени и масла в пробирках или небольших колбах, число которых должно соответствовать числу пробирок ряда, взятого для каждого штамма.

После разведения антибиотика из этих пробирок или колб по 1 *мл* среды вносят в соответствующие пробирки опыта,

начиная с меньших концентраций препарата, и содержимое перемешивают.

9. Подготовка культур для исследования. В зависимости от вида микроорганизма для посева используют 16—18-часовую бульонную или агаровую культуру. В ряды пробирок или бактериологических чашек с питательной средой, содержащей соответствующие разведения антибиотиков, испытуемую культуру засевают мерной пипеткой или бактериологической петлей.

а) При определении чувствительности методом серийных разведений на жидкой питательной среде салмонелл, кишечных палочек, стафилококков, стрептококков и ряда других микроорганизмов используют агаровые культуры, которые смывают стерильным 0,9%-ным водным раствором натрия хлорида (изотонический раствор). По стандарту мутности определяют концентрацию микробных клеток в 1 *мл*, затем методом последовательных разведений получают концентрацию 1 *млн.* микробных клеток в 1 *мл*. Для этой цели разведение культур проводят в двух пробирках с питательной средой. В первую пробирку, содержащую 10 *мл*, вносят 0,1 *мл* культуры с концентрацией 1 млрд. микробных клеток в 1 *мл*, содержимое перемешивают и 1 *мл* переносят во вторую пробирку с 9 *мл* питательной среды, из которой по 0,2 *мл* высевают в каждую пробирку ряда и дополнительно на МПА без антибиотика для контроля чистоты культуры. Пробирку, из которой проводили посев, используют для контроля качества питательной среды. В рабочих пробирках концентрация культуры будет составлять 100 тыс. микробных клеток в 1 *мл* среды.

Примечание. При определении спектра действия новых антибиотиков используют концентрацию культуры 1000 микробных клеток в 1 *мл* питательной среды. Для выявления устойчивых штаммов берут бóльшее количество микробных клеток (100 тыс.), что увеличивает вероятность внесения в среду резистентных особей.

б) При определении этим методом чувствительности возбудителей рожи, пастереллеза, листериоза используют культуры, выращенные на бульоне Хоттингера, которые перед посевом разводят 1 : 10 000. Это разведение получают последовательно в двух пробирках, содержащих по 10 *мл* питательной среды. В первую пробирку вносят 0,1 *мл* бульонной культуры, содержимое перемешивают и 0,1 *мл* переносят во вторую пробирку, из которой высевают по 0,2 *мл* в каждую пробирку ряда.

в) Определение чувствительности аэробных микроорганизмов в агаровой среде проводят в бактериологических чашках, дно которых предварительно делят на сегменты и номеруют по числу исследуемых культур (до 10 штаммов).

Испытуемые культуры засевают петлей — агаровые смывают и разводят до концентрации 500 млн. микробных клеток в 1 *мл*,

бульонные культуры возбудителей рожи, пастереллеза и др. наносят на агар неразведенными. Перед посевом чашки подсушивают в термостате в течение 30 минут.

г) При определении чувствительности анаэробных микроорганизмов для засева среды с антибиотиком используют неразведенную суточную культуру, выращенную на обычной среде Китт—Тароцци с кусочками печени, которую вносят в количестве 0,2 мл на пробирку. Штаммы Клостридиум перфрингенс перед посевом разводят 1 : 100 в питательной среде.

10. Результаты определения чувствительности к антибиотикам аэробных и анаэробных бактерий учитывают визуально через 16—18 часов инкубации при 37°. Отмечают пробирку или чашку, в которой отсутствует рост. Показатель концентрации антибиотика в ней складывают с количеством антибиотика в последующей пробирке, где отмечен рост культуры, и выводят среднее арифметическое число, которое показывает чувствительность испытуемого штамма к антибиотику. Так, в пробирке с содержанием антибиотика 2,5 *мкг/мл* нет роста, а в следующей, где концентрация препарата 1,25 *мкг/мл*, установлен рост культуры, в этом случае бактериостатическая концентрация будет соответствовать 1,8 *мкг/мл*.

Если среда помутнела во всех пробирках, то это указывает, что испытуемый микроб устойчив к максимально взятой концентрации антибиотика. Отсутствие роста во всех пробирках свидетельствует о том, что чувствительность микроба выше использованной в опыте минимальной концентрации. Исследование повторяют с другими концентрациями антибиотика.

Примечание. Если рост культур отдельных видов микробов появляется в более поздние сроки (бруцеллы, туберкулезные палочки, вибрионы и др.), то и результаты по чувствительности учитывают в соответствии с особенностями их роста.

При оценке результатов определения чувствительности микробов к антибиотикам следует учитывать материал, из которого выделена культура.

Антибиотики	Концентрация (*мкг*, ЕД/*мл*)
Пенициллин	Более 10
Эритромицин	» 10
Окситетрациклин	» 20
Хлортетрациклин	» 20
Тетрациклин	» 20
Неомицин (мицерин, колимицин)	» 20
Мономицин	» 50
Левомицетин	» 20
Стрептомицин	» 50
Полимиксин	» 50

В настоящее время патогенные микроорганизмы, выделенные из крови и паренхиматозных органов, считают резистентными в том случае, если рост их не подавляется антибиотиками в концентрациях, указанных в таблице.

Примечание. Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из материала, взятого из ран, вымени, мочеполового тракта, может быть ниже, чем указано в таблице, поэтому выбор лекарственных форм антибиотиков должен соответствовать полученным показателям чувствительности.

11. Метод диффузии в агар с применением дисков, содержащих антибиотики.

а) Питательные среды:

2%-ный агар на мясо-пептонном бульоне;
2%-ный агар на переваре Хоттингера с содержанием 120—140 *мг*% аминного азота;
2%-ный МПА с добавлением 5% крови или сыворотки крови;
pH питательных сред 7,2—7,4.

Среду разливают по 20 *мл* в стерильные бактериологические чашки.

б) Исследуемые культуры, выращенные на агаровой среде, смывают стерильным 0,9%-ным водным раствором натрия хлорида и по бактериальному стандарту готовят одномиллиардную взвесь. На поверхность застывшей среды наливают 1 *мл* взвеси культуры и покачиванием чашки равномерно распределяют ее по всей поверхности. Излишек жидкости отсасывают пипеткой. Чашки подсушивают при 37° в течение 15—30 минут.

в) Диски раскладывают стерильным пинцетом на расстоянии 2 *см* от края чашки и слегка прижимают к агару. После окончания наложения дисков с одним антибиотиком пинцет протирают тампоном, смоченным этиловым спиртом, обжигают и приступают к раскладыванию дисков с другим антибиотиком. Каждая чашка может служить для испытания активности 4—5 антибиотиков.

Нельзя допускать длительные интервалы (более 45 минут) между посевом культуры и наложением дисков.

Чашки с дисками для лучшей диффузии антибиотика в агар выдерживают в течение 2 часов при комнатной температуре (не выше 20°), а затем помещают в термостат при температуре 37° вверх дном.

Стандартные диски с антибиотиками, выпускаемые заводами медицинской промышленности, хранят в закрытых флаконах, в сухом месте при комнатной температуре, срок годности указан на этикетке.

г) Результаты учитывают через 16—18 часов с помощью линейки или миллиметровой бумаги. Определяют диаметр зон задержки роста микробов вокруг бумажных дисков, включая и диаметр дисков. При диаметре зон в 15—25 *мм* микробы следует считать чувствительными к антибиотикам. При зонах величиной до 15 *мм* — микробы малочувствительны. Отсутствие зон задержки роста указывает на то, что исследуемая культура не чувствительна к данному антибиотику.

12. При установлении резистентных культур возбудителей инфекционных болезней животных к применяемым в хозяйстве антибиотикам следует немедленно эти препараты заменять другими лечебными средствами.

Приложение 1

Чувствительность эталонных тест-микробов к антибиотикам в МПБ (pH 7,2—7,4)

Тест-микробы	Антибиотики	Чувствительность *мкг*, ЕД/*мл*
Staph. aureus 209 P	Пенициллин	0,02—0,04
» »	Эритромицин	0,03—0,06
» »	Олеандомицин	0,04—0,09
» »	Тетрациклины	0,2—0,6
» »	Стрептомицин	0,2—0,4
Bac. subtilis L_2	Тетрациклины	0,02—0,04
» »	Левомицетин	0,2—0,9
» »	Мономицин	0,05—0,1
» »	Стрептомицин	0,04—0,08
» »	Неомицин	0,02—0,04

Примечание. Иные результаты по чувствительности эталонных штаммов указывают на нарушения, допущенные в работе.

Готовят два исходных раствора из перекристаллизованных солей: однозамещенного фосфата калия (KH_2PO_4) и двузамещенного фосфата калия (K_2HPO_4).

Соответствующие навески солей (каждой отдельно) растворяют в 1000 *мл* прокипяченной или стерильной дистиллированной воды. Для получения pH буфера приготовленные исходные растворы соединяют в определенных объемных отношениях, указанных в таблице.

Приложение 2

Приготовление фосфатных буферных растворов

pH фосфатного буфера	Количество соли в 1 *л* исходного раствора в *г*		Соотношение объемов (*мл*) смешиваемых исходных растворов	
	K_2HPO_4	KH_2PO_4	K_2HPO_4	KH_2PO_4
6,0—6,2	4	16	1	1
6,8—7,0	11,612	9,073	6,1	3,9
7,8—8,0	11,612	9,073	9,5	0,5

Буферные растворы стерилизуют в автоклаве при давлении 0,5 *атм.* (110—112°) в течение 30 минут.

СПРАВОЧНАЯ ТАБЛИЦА

по чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, патогенных для животных и птиц на 1971 г. (ЕД, мкг/мл)

Микробы	Пенициллин	Эритромицин	Олеандомицин	Тетрациклины	Левомицетин	Стрептомицин	Неомицин, мицерин, колимицин	Мономицин	Полимиксин
Erysipeloth. insidiosa	0,01—0,1	0,02—0,04	0,1—0,4	0,04—3,0	0,4—5,0	0,2—7,5	0,4—2,0	2,0—50	>750
Past. multocida	0,02—0,2	0,07—3,0	2,0—10	0,06—0,8	0,1—0,9	1,8—10	0,9—5,0	0,4—4,6	1,5—5,0
Listeria monocytogenes	0,1 —0,9	0,02—0,5	0,5—1,0	0,2—5,0	1,0—5,0	0,5—15	0,5—2,5	0,7—3,0	37—>50
Streptococcus equi	0,01—0,03	0,02—0,03	0,1—2,5	0,5—0,8	1,0—5,0	1,2—3,0	0,4—2,5	0,8—10	9,0—18
Bac. anthracis	0,1 —1,0	0,1 —5,0	0,5—5,0	0,2—5,0	0,5—5,0	0,2—7,5	0,1—5,0	>100	>50
Brucella abortus	0,15—6,0	0,3 —2,5	1,5—>100	0,1—7,0	1,0—7,0	0,5—5,0	0,5—10	1,3—3,0	0,5—5,0
Vibrio fetus	0,1 —3,0	0,2 —5,0	2,0—9,0	0,02—0,5	0,3—3,0	1,5—10	1,0—10	2,0—10	30—150
Salm. pullorum	2,3 —18,6	50—200	>100	0,2—3,7	0,3—5,0	2,5—18	0,5—4,0	0,5—2,3	0,2—3,7
S. cholerae suis	4,6 —50	50—200	>100	0,4—15	0,9—7,5	9,0—75	1,0—4,0	2,3—9,3	0,6—3,7
S. dublin	4,6 —50	50—200	>100	0,4—7,5	0,9—7,5	9,0—37	0,1—5,0	4,7—9,3	0,4—3,7
S. typhi murium	9,3 —50	50—200	>100	0,4—15	0,9—7,5	9,0—37	1,0—4,0	2,3—9,3	0,2—3,7
S. abortus ovis	4,7 —18	50—200	>100	0,4—3,7	0,5—5,0	9,0—20	0,5—2,0	2,3—9,3	0,2—0,9
E. coli	10—100	25—100	>100	0,4—5,0	0,5—10	3,0—25	1,0—15	3,0—18	0,5—5,0
Proteus vulgaris	2,5—>100	>100	>100	>450	8—>250	1,0—50	5,0—15	3,0—25	>700
Cl. perfringens	0,07—1,0	0,4—4,0	0,5 —6,0	0,2—10	1,0—10	50—500	50—500	>500	>50 тыс.
Cl. septicum	0,02—0,2	0,04—0,3	0,01—2,0	0,1—0,8	0,4—10	10—100	10—100	10—150	>50 тыс.
Cl. chauvoei	0,01—0,2	0,01—0,2	0,03—0,4	0,02—0,5	0,1—5,0	4—50	4—20	4—50	>50 тыс.
Cl. oedematiens	0,01—0,1	0,02—0,2	0,1 —0,9	0,09—0,5	0,4—7,5	7—100	7—100	10—150	>50 тыс.
B. necrophorus	0,02—0,1	0,02—2,0	0,2 —5,0	0,02—1,0	0,2—5,0	18—35	18—100	20—120	—

Сдано в набор 18/XI-71 г. Подп. к печати 23/XII-71 г. Формат 60×90¹/₁₆=1,0 п. л.
Тираж 5000 экз. Л 69401. Бесплатно Зак. 854.

1-я тип. Профиздата, Москва, Крутицкий вал, 18.

gost.e-ecolog.ru